

Article original

Structure génétique des cécidomyies des céréales en Tunisie

Hanem MAKNI^{a,*}, Moez SELLAMI^a,
Mohamed MARRAKCHI^{a,**}, Nicole PASTEUR^{b,**}

^a Laboratoire de génétique moléculaire, Immunologie et biotechnologie,
Faculté des sciences, Campus universitaire, Tunis, Tunisie

^b Institut des sciences de l'évolution (UMR-CNRS 5554),
Génétique et environnement, Université de Montpellier-II (CC065),
34095 Montpellier 05, France

(Reçu le 19 octobre 1999 ; accepté le 2 mai 2000)

Résumé – La structure génétique des cécidomyies a été étudiée dans 14 localités du centre et du sud de la Tunisie par l'étude des allozymes. Les espèces *Mayetiola destructor* et *Mayetiola hordei*, identifiées par leurs allèles diagnostiques à deux locus, n'ont pas montré d'association stricte avec la céréale infestée (blé, orge ou avoine). L'analyse du polymorphisme de six locus a révélé que, chez *M. destructor*, *Pgm3* est porté par un chromosome sexuel et hémizygote chez les mâles comme c'est le cas du locus *PGM* étudié aux U.S.A. Chez *M. hordei*, des hétérozygotes ont été rencontrés chez les mâles aux six locus, mais en nombre très significativement inférieur à celui des femelles au niveau des deux locus (*Mdh2* et *Hk*). De ce fait, l'étude de la structure des populations de *M. hordei* a été menée uniquement sur les femelles. Bien que *M. hordei* ait une hétérozygotie moyenne deux fois plus élevée que *M. destructor*, la structure génétique des deux espèces présente les mêmes caractéristiques. La différenciation génétique entre populations est faible ($F_{st} < 0,05$) mais significative ($P < 0,05$), il n'y a pas d'isolement par la distance et les flux géniques sont comparables dans les deux espèces ($5,7 \leq Nm \leq 9,6$). Les conséquences de ces résultats sur la lutte contre les cécidomyies par une éventuelle utilisation de cultivars de blé résistants sont discutées.

structure génétique / flux géniques / déterminisme du sexe / allozymes / *Mayetiola destructor* et *hordei*

Abstract – Genetic structure of Hessian flies in Tunisia. The genetic structure of *M. destructor* and *M. hordei* was investigated by sampling 21 fields of cereals in 14 localities of central and southern Tunisia. As previously shown, there was no strict association between the cereal species (wheat, barley and oat) and the *Mayetiola* species. *M. destructor* males displayed no heterozygosity at the *Pgm3* locus, indicating that they were hemizygous as is the *PGM* locus in North America. In *M. hordei*, heterozygous males were observed at all loci, but strong heterozygote

* Correspondance et tirés-à-part
E-mail : Hanem.Makni@isajc.rnu.tn

** Co-responsables du travail.

deficits were found at two loci (*Mdh2* et *Hk*). Since no such deficit was observed in females, the population structure of *M. hordei* was studied only in females. Although heterozygosity was two fold higher in *M. hordei* than in *M. destructor*, the two species were similar for other genetic characteristics, including a low ($F_{st} < 0.05$) but significant ($P < 0.05$) genetic differentiation, no isolation by distance, and similar rates of gene flow ($5.7 \leq Nm \leq 9.6$). These results are discussed in relation to their consequences in the event of controlling Tunisian Hessian flies using wheat cultivars that are resistant to a *M. destructor* biotype.

genetic structure / gene flow / sex determination / allozymes / *Mayetiola destructor* and *hordei*

1. INTRODUCTION

La cécidomyie des céréales est un ravageur important en Tunisie. L'existence d'au moins deux espèces avait été suggérée par des observations de terrain et des études, en plein champ et en chambre de culture, des taux d'infestation de cultivars résistants de blé américain [11]. Cela a été récemment confirmé par une analyse génétique qui a montré la présence de deux taxons sympatriques, génétiquement isolés et caractérisés par des allèles diagnostiques à au moins deux locus, *Pgi* et *Mdh2* [12]. Ces deux taxons correspondent aux espèces *Mayetiola destructor* et *Mayetiola hordei* observées au Maroc sur la base de différences anatomiques observées sur le puparium et le post-abdomen des adultes par microscopie [5]. En effet, les mêmes allèles diagnostiques existent dans les deux pays [12] (*Pgi*¹⁰⁰, *Pgi*¹²⁰ et *Mdh2*¹⁰⁰ chez *M. destructor*; *Pgi*¹⁴⁰, *Pgi*¹⁶⁰, *Mdh2*⁸⁰ et *Mdh2*⁹⁰ chez *M. hordei*).

Contrairement à ce que l'on observe au Maroc où les deux espèces sont sympatriques sur la totalité de leur aire de répartition, les observations symptomatologiques [11] suggéraient qu'en Tunisie seule *M. destructor* était présente (absence de galles sur les plants infestés de blé ou d'orge, en particulier à Djedeida), alors que dans le sud il n'y avait que *M. hordei* (présence de galles sur tous les pieds infestés d'orge). Par ailleurs, *M. destructor* du nord de la Tunisie appartiendrait au biotype D. En effet, les gènes de résistance H5, H11 et H13 des cultivars américains de blé 658, KS 811152 et Arthur 71 caractérisant ce biotype [8] sont efficaces dans cette région [11]. Ce biotype a aussi été trouvé au Maroc [1,3], et il est possible qu'il soit présent dans tout le Maghreb. La méthode de lutte contre les cécidomyies qui semble actuellement la plus efficace et la plus économique est l'utilisation des variétés de céréales résistantes à la cécidomyie [9]. Or pour pouvoir être utilisée à grande échelle, elle demande une connaissance plus approfondie des populations de ce ravageur et, en particulier, des relations génétiques existant entre populations.

Pour répondre à ce besoin, nous avons entrepris l'analyse de la structure génétique des cécidomyies du centre et du sud de la Tunisie. Les questions posées étaient : (1) La structure génétique des deux espèces (*M. destructor* et *M. hordei*) est-elle comparable ? (2) Les échantillons prélevés au niveau d'un champ correspondent-ils à des unités panmictiques ? (3) Comment s'opèrent les flux géniques entre localités en relation avec la distance géographique qui les sépare ?

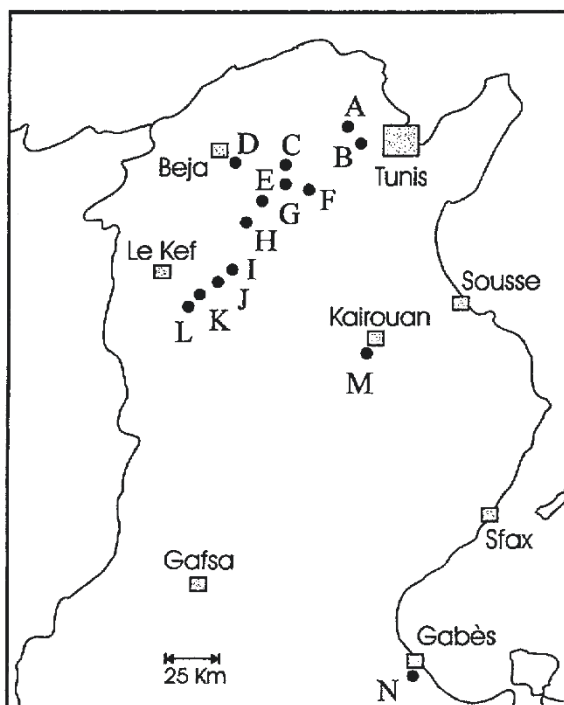


Figure 1. Localités dans lesquelles ont été échantillonnées *Mayetiola destructor* et *Mayetiola hordei* dans des champs de blé, d'orge et d'avoine en Tunisie.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1. Les échantillons

Au total 21 stations réparties dans 14 localités (Fig. 1) ont été échantillonnées en tenant compte des pratiques culturales. Chaque station correspond à un champ de blé, d'orge ou d'avoine contenant des plantes infestées (Tab. I). Les plantes sont généralement prélevées selon un transect à travers le champ et regroupées dans un sac. Les échantillons sont ramenés au laboratoire et conservés dans des cages voilées jusqu'à l'émergence des adultes. Les adultes sont prélevés chaque jour et conservés à -80°C jusqu'à leur utilisation. Les individus des stations A (Djedeida) et F (Goubellat) proviennent des mêmes prélèvements que ceux qui ont servi à mettre en évidence des allèles diagnostiques entre les deux espèces de *Mayetiola* [12]; les échantillons A1 et F2, précédemment nommés DW(-) et GB(+), ont été utilisés comme témoins lors des électrophorèses.

2.2. Étude électrophorétique

Elle a été effectuée sur des adultes. Cinq systèmes enzymatiques ont été révélés après électrophorèse sur gel d'amidon à 9 % en utilisant le tampon TC

8,0 [14] : les phosphogluco-isomérases (PGI), les malate-déshydrogénases (MDH), les hexokinases (HK), les phosphoglucomutases (PGM) et les malique-enzymes (ME). Nous avons nommé les allèles et les locus détectés en fonction de leur migration électrophorétique selon les conventions adoptées précédemment [12].

2.3. Analyse des données

Les résultats ont été saisis avec le logiciel EXCEL, ce qui a permis un tri facile des deux espèces (*M. destructor* et *M. hordei*) en fonction des allèles observés à au moins un des deux locus diagnostiques, *Mdh2* et *Pgi*. L'analyse des données a été effectuée sur chaque espèce à l'aide de la version 3.1d. du logiciel GENEPOP [15]. Les excès et déficits d'hétérozygotes au sein de chaque échantillon et pour chaque locus, ou pour l'ensemble des échantillons et des locus ont été évalués par le paramètre Fis [21]. Les écarts à la panmixie (testés en considérant les deux hypothèses alternatives : déficits et excès en hétérozygotes) et les associations génotypiques entre paires de locus ont été analysés statistiquement en utilisant le test exact décrit par Rousset et Raymond [17] au niveau de chaque locus et de chaque échantillon, et le test combiné [4] au niveau de l'ensemble des locus ou/et des populations. Une analyse de la variance des déséquilibres entre paires de locus sur l'ensemble des échantillons a été faite par la méthode des « D-Statistics » [13] qui décompose la variance totale (Dit) en variance intra (Dis) et inter (Dst) populations et qui permet de tester la neutralité des locus analysés. Cette analyse a été faite grâce au logiciel LINKDOS [6].

La différenciation génétique entre populations a été estimée par le calcul des Fst [21] et analysée statistiquement au niveau de chaque locus et sur l'ensemble des locus [17]. L'isolement par la distance a été étudié en analysant la régression entre la différenciation (estimée par $F_{st}/[1 - F_{st}]$) et le logarithme de la distance géographique séparant les échantillons considérés [16]. Enfin, le nombre efficace de migrants par génération (Nm) a été estimé à partir de F statistiques selon l'équation $Nm = \frac{1/(F_{st} - 1)}{4}$ [22], ainsi que par la méthode des allèles privés [18]. Nous avons utilisé le test de Bonferroni [10] pour tenir compte de l'ensemble des tests réalisés quand nécessaire.

3. RÉSULTATS

3.1. Distribution des espèces dans les échantillons

Le décompte des individus appartenant aux espèces *M. destructor* et *M. hordei*, identifiées par leurs allèles diagnostiques aux locus *Mdh2* et/ou *Pgi* (Tab. I), confirme qu'il n'y a pas d'association stricte entre espèce de céréales et espèce de cécidomyie [12]. Ainsi, *M. destructor* était l'espèce majoritaire (95 %) dans un champ de blé (F3) et la seule espèce dans les quatre autres champs de blé (A1, E, L2, M1) ainsi que dans deux des 15 champs d'orge (A2 et F1). Cette espèce a également été trouvée à faible fréquence (< 5 %) dans

Tableau I. Origine géographique et caractéristiques des échantillons de cécidomyies tunisiennes. Les espèces *Mayetiola destructor* et *M. hordei* ont été identifiées par leurs allozymes aux locus diagnostiques *Pgi* et *Mdh2*.

Échantillons	Localités	Plante hôte	Galle	<i>M. destructor</i>	<i>M. hordei</i>	Total
A1	Djedeida	Blé	non	161	0	161
A2	"	Orge	non	13	0	13
B	Mornaguia	Orge	oui	0	40	40
C	Ouest de Medjez El Bab	Orge	oui	0	31	31
D	Beja	Orge	oui	0	16	16
E	Slouguia	Blé	non	39	0	39
F1	Goubellat	Orge	non	8	0	8
F2	"	Orge	oui	0	163	163
F3	"	Blé	non	37	2	39
F4	"	Avoine	oui	2	10	12
G	Ain Toungua	Orge	oui	0	31	31
H	Téboursouk	Orge	oui	4	103	107
I	Borj Masoudi	Orge	oui	1	31	32
J	Sers	Orge	oui	0	47	47
K1	Zouarine	Orge	oui	0	36	36
K2	"	Orge	oui	0	20	20
L1	Dahmani	Orge	oui	2	38	40
L2	"	Blé	non	20	0	20
M1	Kairouan	Blé	non	8	0	8
M2	"	Orge	oui	0	31	31
N	Téboulbou (Gabès)	Orge	oui	0	21	21

trois champs d'orge (H, I et L1). *M. hordei* s'est révélée la seule espèce présente dans les échantillons provenant de 10 champs d'orge. Aucune galle n'a été mise en évidence dans les champs de céréales où *M. destructor* était majoritaire, que cette céréale soit du blé (5 champs) ou de l'orge (2 champs). Notons enfin que le seul échantillon prélevé sur avoine (F4) contenait les deux espèces.

3.2. Analyse de la composition génétique des échantillons

3.2.1. Associations entre le sexe et les génotypes allozymiques

Les études cytogénétiques menées sur *M. destructor*, ont montré que, chez les femelles, les cellules somatiques contiennent deux paires d'autosomes et deux paires de chromosomes sexuels (X1 et X2). Chez les mâles, X1 et X2 sont monosomiques par suite de l'élimination des chromosomes sexuels d'origine paternelle au début de l'embryogenèse [19,20]. Une étude de liaison, incluant sept locus dont trois (*PGM*, *PGI* et *MDH*) peuvent être équivalents à ceux que nous avons analysés ici, a été publiée [2]. Elle a révélé que *PGM* et *PGI* sont liés (7,5 cM) et portés par le même chromosome sexuel alors que *MDH* est autosomal. Nous avons recherché si les locus étudiés dans nos échantillons tunisiens pouvaient être portés par un chromosome sexuel en examinant s'il existait des

génotypes hétérozygotes chez les mâles aux locus polymorphes (*Pgi*, *Hk*, *Me*, et *Pgm3*). Au locus *Pgi*, cinq des 16 hétérozygotes observés dans l'ensemble des échantillons étaient des mâles; aux locus *Hk* et *Me* un seul hétérozygote a été observé et dans les deux cas il s'agissait d'une femelle; enfin, au locus *Pgm3*, les 45 individus hétérozygotes observés étaient des femelles. Étant donné le faible polymorphisme des locus *Hk* et *Me*, la différenciation génotypique entre mâles et femelles n'est pas significative ($P > 0,5$) et l'absence de mâles hétérozygotes n'indique pas nécessairement que ces locus sont portés par un chromosome sexuel. Par contre, la différenciation génotypique entre sexes est hautement significative ($P < 0,0001$) pour le locus *Pgm3*. Nous pouvons donc conclure que ce gène est porté par un chromosome sexuel et qu'il correspond vraisemblablement au locus *PGM* étudié précédemment [2]. En ce qui concerne *Pgi*, il est clair qu'il n'est pas équivalent au locus *PGI* déjà décrit [2].

Contrairement à *M. destructor*, aucune étude des chromosomes ou du déterminisme du sexe n'a été effectuée chez *M. hordei*. L'examen des génotypes a montré l'existence d'hétérozygotes chez les mâles au niveau de tous les locus étudiés. Ainsi, parmi les hétérozygotes observés, 11 sur 21 sont des mâles au locus *Pgi*, 81 sur 185 au locus *Mdh2*, 19 sur 109 au locus *Hk*, 1 sur 4 au locus *Me*, et 36 sur 75 au locus *Pgm3*. Enfin le seul hétérozygote observé au locus *Mdh1* est un mâle. La proportion d'hétérozygotes chez les mâles et les femelles n'est pas significativement différente ($P > 0,05$) aux locus *Pgi*, *Me* et *Pgm3*. Par contre, il y a moins d'hétérozygotes chez les mâles que chez les femelles aux locus *Mdh2* et *Hk* (pour *Mdh2* : 81 mâles hétérozygotes sur les 209 examinés contre 104 femelles hétérozygotes sur les 230 étudiées, $P = 0.08$; pour *Hk* : 19 mâles hétérozygotes sur les 204 examinés contre 90 femelles hétérozygotes sur les 203 examinées, $P < 0,0001$).

3.2.2. Excès et déficits en hétérozygotes dans les échantillons

Les écarts à la panmixie ont été analysés en évaluant le paramètre Fis pour chaque échantillon et chaque locus. Chez les deux espèces, quelques excès d'hétérozygotes sont constatés, mais aucun n'est significatif ($P > 0,20$). Par contre il existe de nombreux déficits d'hétérozygotes.

Chez *M. destructor* (Tab. II), en considérant que les mâles sont hémiploïdes au locus *Pgm3*, quatre déficits significatifs ($P \leq 0,05$) ont été observés au niveau de trois locus : *Pgi* (échantillons A1 et F3), *Me* (échantillon E) et *Pgm3* (échantillon A1). Seuls deux de ces déficits restent significatifs ($P = 0,05$) quand on tient compte de l'ensemble des tests effectués (test de Bonferroni [10]).

Chez *M. hordei*, en considérant les deux sexes de chaque échantillon (données non montrées), 24 déficits significatifs ($P < 0,05$) ont été observés. Ils concernent les locus *Mdh2* (échantillon G), *Me* (échantillons F2 et N), *Pgm3* (7 des 11 échantillons étudiés) et *Hk* (tous les échantillons). Étant donné les anomalies observées entre sexes dans la distribution des génotypes hétérozygotes (voir ci-dessus), nous avons réitéré les calculs en ne considérant que les femelles (Tab. III). Aucun excès d'hétérozygotes ne s'est révélé significatif ($P > 0,21$) et seulement huit déficits l'étaient ($P \leq 0,05$); parmi eux trois le sont restés ($P = 0,05$) quand on a considéré l'ensemble des tests (test de Bonferroni [10]) : locus *Hk* (dans l'échantillon H), *Me* (échantillon F2) et *Pgm3* (échantillon M2).

Tableau II. Fréquences alléliques et valeurs de Fis dans les échantillons de *M. destructor*. Les déviations de l'équilibre de Hardy-Weinberg significatives ($P < 0,05$) au niveau de chaque échantillon et de chaque locus sont soulignées; elles sont notées* quand elles restent significatives en tenant compte de l'ensemble des tests (test de Bonferroni).

LOCUS	A1	A2	E	F1	F3	L2	M1	Tous les échantillons
PGI								
(N)	(143)	(9)	(38)	(8)	(37)	(20)	(8)	
100	0,96	0,83	0,99	1,00	0,96	0,98	0,75	
120	0,04	0,17	0,01	—	0,04	0,03	0,25	
<i>Fis</i>	<u>0,34*</u>	—0,14	—	—	<u>0,66</u>	—	—0,27	<u>0,20</u>
MDH2								
(N)	(141)	(9)	(38)	(8)	(34)	(20)	(7)	
100	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	—
<i>Fis</i>	—	—	—	—	—	—	—	—
HK								
(N)	(137)	(0)	(39)	(7)	(22)	(18)	(8)	
100	1,00	—	1,00	1,00	1,00	0,94	1,00	
110	—	—	—	—	—	0,06	—	
<i>Fis</i>	—	—	—	—	—	1,00	—	<u>0,66</u>
ME								
(N)	(130)	(9)	(38)	(0)	(26)	(20)	(0)	
100	1,00	1,00	0,97	—	1,00	1,00	—	
110	—	—	0,03	—	—	—	—	
<i>Fis</i>	—	—	<u>1,00</u>	—	—	—	—	<u>0,67</u>
PGM3								
(N)	(43)	(0)	(18)	(0)	(11)	(0)	(7)	
60	0,16	—	0,19	—	0,41	—	0,33	
70	0,03	—	—	—	—	—	—	
80	—	—	0,02	—	—	—	—	
90	0,32	—	0,40	—	0,32	—	0,47	
100	0,48	—	0,42	—	0,27	—	0,20	
105	0,01	—	—	—	—	—	—	
<i>Fis</i>	<u>0,23*</u>	—	—0,11	—	0,22	—	—0,26	<u>0,10</u>
MDH1								
(N)	(64)	(0)	(38)	(0)	(0)	(20)	(0)	
120	1,00	—	1,00	—	—	1,00	—	
<i>Fis</i>	—	—	—	—	—	—	—	—
Tous								
<i>Fis</i>	—	—	—	—	—	—	—	0,13
<i>Déficits</i> $P < 0,001$ $P = 1$ $P = 0,008$ — $P = 0,008$ $P = 0,03$ $P = 0,85$ $P < 0,0001$								

Tableau III. Fréquences alléliques et déviations de l'équilibre de Hardy-Weinberg observées chez les femelles *M. hordei*. Les déviations significatives ($P < 0,05$) sont soulignées; celles qui restent significatives après un test de Bonferroni sont notées*. La taille des échantillons est indiquée entre parenthèses.

LOCUS	B	C	D	F2	F4	G	H	I	J	K1	K2	L1	M2	N	Tous les échantillons
PGI	(22)	(16)	(5)	(51)	(8)	(18)	(20)	(8)	(22)	(15)	(4)	(21)	(22)	(14)	
130	-	-	0,30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
140	1,00	1,00	0,70	0,97	0,94	1,00	1,00	1,00	0,98	1,00	1,00	1,00	1,00	0,93	
160	-	-	-	0,03	0,06	-	-	-	0,02	-	-	-	-	0,07	
<i>Fis</i>	-	-	-0,33	-0,02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,04	-0,11
MDH2	(22)	(18)	(5)	(52)	(8)	(17)	(21)	(8)	(5)	(15)	(4)	(21)	(21)	(13)	
80	0,61	0,58	1,00	0,74	0,75	0,41	0,67	0,63	0,50	0,43	0,75	0,50	0,69	0,42	
90	0,39	0,42	-	0,26	0,25	0,59	0,33	0,37	0,40	0,57	0,25	0,40	0,31	0,58	
<i>Fis</i>	0,16	0	-	-0,14	-0,27	0,54	0,17	0	-0,09	-0,19	-0,20	0,17	-0,20	-0,39	-0,01
HK	(11)	(15)	(2)	(40)	(0)	(16)	(27)	(7)	(21)	(13)	(4)	(18)	(18)	(11)	
60	0,13	0,20	-	0,03	-	-	0,04	-	0,02	-	-	-	-	-	
70	0,23	0,03	-	0,20	-	0,25	0,30	0,14	0,12	0,11	-	0,17	0,08	0,14	
80	0,32	0,037	1,00	0,42	-	0,47	0,20	0,29	0,62	0,58	-	0,39	0,58	0,32	
90	0,32	0,40	-	0,35	-	0,28	0,46	0,57	0,24	0,31	1,00	0,44	0,33	0,54	
<i>Fis</i>	0,29	0,33	-	0,21	-	0,44	0,67*	0,32	0,15	-0,20	-	0,22	0,31	0,11	0,29
ME	(22)	(19)	(5)	(40)	(0)	(18)	(20)	(8)	(22)	(15)	(4)	(21)	(7)	(9)	
85	-	-	-	0,01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,28	
90	1,00	1,00	1,00	0,97	-	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0,72	
100	-	-	-	0,02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Fis</i>	-	-	-	0,77*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,77
PGM3	(0)	(18)	(0)	(28)	(0)	(11)	(33)	(8)	(18)	(14)	(4)	(21)	(19)	(13)	
40	-	0,17	-	0,12	-	0,26	0,29	0,26	0,22	0,24	0,35	0,18	0,17	0,16	
50	-	0,83	-	0,88	-	0,74	0,71	0,74	0,78	0,76	0,60	0,82	0,83	0,84	
<i>Fis</i>	-	-0,17	-	0,20	-	-0,17	0,47	0,19	0,23	0,19	-0,50	0,34	1*	0,44	0,27
MDH1	(11)	(18)	(0)	(23)	(0)	(7)	(14)	(4)	(22)	(15)	(4)	(21)	(0)	(0)	
110	1,00	0,97	-	1,00	-	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	-	-	
120	-	0,03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Fis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tous	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,21
<i>Fis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,21
Déficits	$P = 0,07$	$P = 0,19$	$P = 1$	$P < 0,01$	$P = 1$	$P = 0,01$	$P < 0,01$	$P = 0,18$	$P = 0,06$	$P = 0,68$	$P = 1$	$P = 0,05$	$P < 0,01$	$P = 0,06$	$P < 0,001$

Ce résultat indique que la distribution des génotypes chez les femelles *M. hordei* suit globalement la loi de Hardy-Weinberg et il montre que les déficits observés quand on tient compte des deux sexes sont essentiellement dus aux mâles.

3.3. Flux géniques entre populations

Ils ont été analysés en étudiant la structure génétique des populations à partir de l'étude des Fst. Comme les estimations des flux géniques basées sur les Fst supposent que les gènes étudiés ne soient pas soumis à la sélection, nous n'avons considéré que les femelles de l'espèce *M. hordei*, et nous avons recherché dans un premier temps s'il existait dans nos échantillons des associations alléliques non aléatoires qui pourraient être dues à la sélection.

3.3.1. Associations alléliques entre paires de locus

Nous avons analysé les déséquilibres de liaison entre paires de locus. Chez *M. destructor*, aucun n'est significatif ($P > 0,05$) que l'on considère les échantillons indépendamment ou ensemble. Chez *M. hordei*, un seul déséquilibre de liaison ($P = 0,008$) est observé quand on considère les échantillons indépendamment (entre les locus *Hk* et *Me* dans l'échantillon F2) mais il n'est pas significatif ($P > 0,05$) quand on tient compte de l'ensemble des tests (test de Bonferroni [10]). Au niveau de l'ensemble des échantillons, le seul déséquilibre significatif ($P = 0,05$) est observé entre les locus *Hk* et *Me*. Une analyse par les D-statistiques [13] a révélé que, chez les deux espèces et pour l'ensemble des paires de locus, $D_{IS} < D_{ST}$ et $D'_{IS} > D'_{ST}$. Ce résultat indique des déséquilibres non systématiques créés par la dérive au sein de chaque site. Ces analyses permettent de conclure que, tant chez *M. destructor* que chez *M. hordei*, il y a indépendance du polymorphisme des locus étudiés, et que les déséquilibres observés quand on considère l'ensemble des échantillons de chaque espèce s'expliquent par la dérive génétique.

3.3.2. Différenciation génétique entre populations et flux géniques

L'importance de la différenciation génotypique a été appréciée par l'indice Fst (Tab. IV). La différenciation génotypique globale est faible et du même ordre de grandeur chez *Mayetiola destructor* et *M. hordei* ($F_{ST} = 0,045$ et $0,039$ respectivement); toutefois dans les deux espèces elle est significative ($P < 0,05$). Quand on examine cette différenciation aux différents locus (Tab. IV), on constate que chez *M. destructor*, elle n'est significative qu'au locus *Pgi* ($P = 0,03$), alors que chez *M. hordei* elle l'est à 5 des 6 locus étudiés ($P \leq 0,0017$).

L'organisation de la structure génétique est indépendante de la distance géographique séparant les échantillons dans les deux espèces. En effet, la pente de la régression entre $F_{ST}/(1 - F_{ST})$ et la distance géographique (exprimée en logarithme) est négative, et la corrélation entre les deux paramètres n'est pas significative ($P > 0,50$). Le nombre de migrants efficaces par génération évalué à partir des Fst [22] est de 5,69 chez *M. destructor* et 6,23 chez *M. hordei*. Des valeurs comparables sont obtenues par la méthode des allèles privés [18] : 9,58 et 8,02, respectivement. Ces résultats indiquent de forts flux géniques, peu compatibles avec des adaptations locales importantes.

Tableau IV. Différenciation génotypique chez *M. destructor* et *M. hordei* et probabilités sous l'hypothèse d'absence de différenciation ($F_{st} = 0$).

Locus	<i>M. destructor</i>		<i>M. hordei</i>	
	Fst	P	Fst	P
PGI	0,069	0,03	0,095	< 0,0001
MDH2	—	—	0,052	0,0006
HK	0,029	0,20	0,044	0,0017
ME	-0,005	0,43	0,110	0,0008
PGM3	0,041	0,16	-0,018	0,94
MDH1	—	—	—	—
Tous :	0,042	0,05	0,039	< 0,0001

4. DISCUSSION

Notre étude sur 21 échantillons, prélevés dans le centre et le sud de la Tunisie, confirme les résultats récemment obtenus [12]. En particulier, il n'y a pas d'association stricte entre l'espèce de cécidomyie infestante et la nature de la céréale infestée : *M. destructor* et *M. hordei* sont toutes les deux capables de coloniser le blé, l'orge et l'avoine et, dans de nombreux cas, les deux espèces peuvent être présentes sur une même culture. Par ailleurs, l'infestation n'est associée à la formation de galles que lorsque *M. hordei* est l'espèce la plus commune de la culture considérée.

La structure génétique des deux espèces est comparable. Toutes deux présentent une différenciation génotypique globale significative ($P < 0,05$) bien que faible ($F_{st} < 0,05$). Cette différenciation semble être due essentiellement à la dérive génétique et les flux géniques estimés par le taux de migrants efficaces par génération (Nm) sont de même ordre de grandeur chez les deux espèces, c'est-à-dire entre 5,7 et 9,6. Enfin, nous n'avons pas mis en évidence l'existence d'un isolement par la distance dans la zone géographique étudiée.

Ces conclusions sont faites sur la base de l'analyse des données obtenues uniquement sur les femelles de *M. hordei*. En effet chez cette espèce, nous avons montré que le nombre d'hétérozygotes est très significativement ($P \leq 0,0001$) plus faible chez les mâles que chez les femelles au niveau des deux locus *Mdh2* et *Hk*. Cela est associé à de très forts écarts à la panmixie quand on considère les deux sexes ; mais ils disparaissent lorsqu'on considère uniquement les femelles. Trois hypothèses peuvent être avancées pour expliquer ces observations. La première implique la présence d'une forte sélection contre les hétérozygotes chez les mâles. Elle semble néanmoins peu vraisemblable car elle devrait conduire à terme à un isolement sexuel entre formes, à moins qu'elle ne soit compensée par une forte sélection en faveur des hétérozygotes chez les femelles (ce qui n'a pas été observé puisqu'il n'y a pas d'excès d'hétérozygotes significatifs chez les femelles). La seconde hypothèse implique que, contrairement à *M. destructor*, le déterminisme du sexe n'est pas dû à l'absence d'un chromosome X (c'est-à-dire à un génotype X/0) chez *M. hordei*, mais qu'il est associé à un facteur sexuel (comme cela est le cas par exemple chez les Culicidae [7]) sur le même chromosome que les gènes *Mdh2* et *Hk*. Ainsi, les

mâles pourraient être hétérozygotes pour ces locus, mais la liaison qu'ils ont avec le facteur sexuel génère des déséquilibres de liaison d'autant plus forts que le taux de recombinaison est faible. Ces déséquilibres de liaison apparaissent comme des écarts à la panmixie dans les analyses statistiques considérant les deux sexes. Enfin, la troisième hypothèse se base sur les connaissances acquises sur la détermination du sexe chez *M. destructor*. Chez cette dernière espèce, l'haploïdie somatique des chromosomes sexuels serait due à l'élimination du lot chromosomique paternel au début de l'embryogenèse [20]. Il est possible que chez *M. hordei*, ce phénomène existe aussi mais qu'il ne soit pas complet, de sorte qu'une partie des mâles qui paraissent homozygotes pourraient être des hémizygotes. L'analyse du mécanisme du déterminisme du sexe chez *M. hordei* mériterait d'être approfondie car, d'un point de vue évolutif, elle permettrait d'avancer dans notre compréhension de l'évolution du sexe.

En ce qui concerne la lutte contre les cécidomyies par l'introduction de variétés résistantes de blé américain, l'observation de forts flux géniques entre populations suggère, d'une part, que les gènes contrôlant les différents biotypes présents en Tunisie ont une large répartition géographique et, d'autre part, que les cécidomyies ont une capacité de recolonisation importante. Ces deux facteurs sont favorables à la sélection rapide de populations virulentes pour les variétés de blé qui pourraient être introduites. Par le terme de «populations virulentes», il faut entendre soit des biotypes de *M. destructor* virulents par rapport aux variétés de blé choisies, soit un éventuel remplacement de *M. destructor* par *M. hordei*, puisque cette dernière espèce est aussi capable d'infester le blé. Il serait important, dans le futur, de mieux caractériser le nombre et la nature des biotypes de *M. destructor* et de *M. hordei* présents en Tunisie afin d'identifier et, si possible quantifier, la nature des pressions de sélection que les cultivars résistants de blé sont susceptibles de provoquer. Ces données pourraient alors être utilisées dans des modélisations qui, associées à des expérimentations en plein champ, pourraient servir de base pour déterminer la meilleure gestion à mettre en place.

REMERCIEMENTS

Le travail décrit dans cet article a été réalisé grâce au soutien de la Direction générale de la Recherche scientifique et technique au ministère de l'Enseignement supérieur, du secrétariat d'État à la Recherche scientifique et à la Technologie et de l'Institut français de coopération auprès de l'Ambassade de France en Tunisie (projet CMCU 97 F 09 08). Pour l'Institut des sciences de l'évolution, cette publication est inventoriée ISEM.2000-45.

RÉFÉRENCES

- [1] Amri A., Hatchett J.H., Cox T.S., El Bouhssini M., Sears R.G., Resistance to Hessian fly from North African Durum wheat germplasm, *Crop Sci.* 30 (1990) 378-381.
- [2] Black W.C., Hatchett J.H., Evans B.R., Krchma L.J., A linkage map of seven allozyme loci in the Hessian fly, *J. Hered.* 86 (1996) 476-481.

- [3] El Bouhssini M., Amri A., Hatchett J.H., Wheat genes conditionning resistance to their Hessian fly (Diptera: Cecidomyiidae) in Morocco, J. Econ. Entomol. 81 (1988) 709–712.
- [4] Fisher R.A., Statistical methods for research workers, 14th edn., Olivier and Boyd, Edinburgh, 1970.
- [5] Gagne R.J., Hatchett J.H., Lhaloui S., El Bouhssini M., Hessian fly and barley stem gall midge, two different species of *Mayetiola* (Diptera: Cecidomyiidae) in Morocco, Ann. Entomol. Soc. Amer. 84 (1991) 435–443.
- [6] Garnier-Gere P., Dillmann C., A computer program for testing pairwise linkage disequilibria in subdivided populations, J. Hered. 83 (1992) 239.
- [7] Gilchrist B.M., Haldane J.B.S., Sex linkage and sex determination in a mosquito, *Culex molestus*, Hereditas 33 (1947) 175–189.
- [8] Gill B.S., Hatchett J.H., Raupp W.J., Chromosomal mapping of Hessian fly resistance gene H13 in the D genome of wheat, J. Hered. 78 (1987) 97–100.
- [9] Hatchett J.H., Martin T.J., Livers R.W., Expression and inheritance of resistance to Hessian fly in synthetic hexaploid wheats derived from *Triticum tauschii* (Coss), Crop Sci. 21 (1981) 731–734.
- [10] Holmes S., A simple sequentially rejective multiple test procedure, Scand. J. Statist. 6 (1979) 65–70.
- [11] Makni H., Analyse des interactions génétiques entre les céréales (blé et orge) et leurs insectes ravageurs : *Mayetiola* sp. (Cecidomyiidae). Thèse de Doctorat, Université de Tunis, Tunis, 1993.
- [12] Makni H., Marrakchi M., Pasteur N., Biochemical characterization of sibling species in Tunisian *Mayetiola* (Diptera: Cecidomyiidae), Biochem. Syst. Eco. 28 (2000) 101–109.
- [13] Ohta T., Role of very slightly deleterious mutations in molecular evolution and polymorphism, Theor. Pop. Biol. 10 (1999) 254–275.
- [14] Pasteur N., Pasteur G., Bonhomme F., Catalan J., Britton-Davidian J., Manuel technique de génétique par électrophorèse des protéines, Tec & Doc- Lavoisier, Paris, 1987.
- [15] Raymond M., Rousset F., GENEPOP (version 1.2): Population genetics software for exact tests and ecumenicism, J. Hered. 86 (1995) 248–249.
- [16] Rousset F., Genetic differentiation and estimation of gene flow from F-statistics under isolation by distance, Genetics 145 (1997) 1219–1228.
- [17] Rousset F., Raymond M., Testing heterozygote excess and deficiency, Genetics 140 (1995) 1413–1419.
- [18] Slatkin M., Rare alleles as indicators of gene flow, Evolution 39 (1985) 53–65.
- [19] Stuart J.J., Hatchett J.H., Cytogenetics of Hessian fly: I. Mitotic karyotype analysis and polytene chromosome correlations, J. Hered. 79 (1988) 184–189.
- [20] Stuart J.J., Hatchett J.H., Genetics of sex determination in the Hessian fly, *Mayetiola destructor*, J. Hered. 82 (1991) 43–52.
- [21] Weir B.S., Cockerham C.C., Estimating F-statistics for analysis of population structure, Evolution 38 (1984) 1358–1370.
- [22] Wright S., Evolution and the genetics of populations. Vol. 2. The theory of gene frequencies, University Chicago Press, Chicago, 1969.